



Niveles elevados de adrenomedulina en pacientes hipertensos en programa de hemodiálisis

A. Cases, N. Esforzado, M. Vera, S. Lario, J. López-Pedret, W. Jiménez y F. Rivera-Fillat

Servicio de Nefrología y Laboratorio de Hormonal. Hospital Clínic. IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer). Universidad de Barcelona.

RESUMEN

Los pacientes urémicos presentan con frecuencia hipertensión arterial cuyo origen es multifactorial y no bien dilucidado. Un desbalance entre la actividad de los sistemas presores y vasodilatadores podría estar implicado en su patogenia. En este trabajo nos hemos propuesto valorar el estado del óxido nítrico (NO) y la adrenomedulina (ADM) en pacientes hemodializados con hipertensión arterial.

Estudiamos un grupo de pacientes hemodializados hipertensos ($n = 9$) y un grupo de pacientes normotensos ($n = 10$) controles. A estos pacientes se les determinó la actividad renina plasmática (ARP), así como niveles plasmáticos de catecolaminas, ADM, nitritos/nitratos (para estimar la producción de NO) en condiciones basales, antes de iniciar la sesión de hemodiálisis.

Los niveles plasmáticos de catecolaminas y ARP eran similares en ambos grupos de pacientes. Los pacientes hemodializados en conjunto presentaban unos niveles de nitritos/nitratos y de ADM superiores a los valores de referencia en la población general. No se observaron diferencias significativas en los niveles de nitritos/nitratos, pero los niveles de ADM eran superiores en los pacientes hipertensos ($278,3 \pm 15,5$ pg/ml) respecto a los normotensos ($224,9 \pm 9,9$ pg/ml) ($p < 0,01$). Considerando a todos los pacientes en conjunto observamos una correlación positiva entre niveles adrenomedulina y niveles de presión arterial diastólica ($r = 0,51$, $p < 0,05$) y media ($r = 0,468$, $p = 0,05$).

En conclusión, los niveles de ADM y nitritos/nitratos están elevados en los pacientes en HD, aunque sólo los niveles de ADM eran superiores en los pacientes hipertensos. Nuestros resultados no sugieren que un descenso de la liberación de factores vasodilatadores estén implicados en la HTA del paciente urémico.

Palabras clave: **Hemodiálisis. Hipertensión arterial. Adrenomedulina. Óxido nítrico.**

Recibido: 1-III-2000.

En versión definitiva: 14-VII-2000.

Aceptado: 17-VII-2000.

Correspondencia: Dr. Aleix Cases
Servicio de Nefrología
Hospital Clínic
Villarroel, 170
08036 Barcelona

INCREASED PLASMA ADRENOMEDULLIN LEVELS IN PATIENTS WITH END-STAGE RENAL DISEASE ON MAINTENANCE HEMODIALYSIS: ROLE OF HYPERTENSION

SUMMARY

Hypertension is a frequent finding in uremic patients. The pathogenesis of this complication in uremia is complex and not fully elucidated. An imbalance between the vasoconstrictor and vasodilator systems may be involved in its pathogenesis. In this study we have evaluated the state of nitric oxide (NO) and adrenomedullin (ADM) in hemodialyzed patients, especially those with hypertension.

We included a group of hypertensive hemodialyzed patients (n = 9) and a group of normotensive control patients (n = 10). We measured plasma renin activity, as well as plasma catecholamines, ADM, and nitrite/nitrate levels in basal conditions before starting the hemodialysis session. Plasma volume, as well as left ventricular ejection fraction were also measured.

Hemodialysis patients showed plasma levels of nitrite/nitrates and ADM higher than the reference values in the normal population. We observed no differences in the plasma levels of nitrite/nitrates, but ADM levels were higher in hypertensive (278.2 ± 15.5 pg/ml) patients than in normotensive patients (225 ± 9.9 pg/ml) ($p < 0.05$). When considering all patients together, mean arterial pressure positively correlated with plasma ADM ($r = 0.468$, $p < 0.05$). Plasma volume and left ventricular ejection fraction were similar in the two groups of patients.

In summary, plasma levels of nitrite/nitrates and ADM are increased in hemodialyzed patients, although only ADM levels were further increased in hypertensive patients. Our results do not suggest that a decreased production in the vasodilator factors evaluated is involved in the pathogenesis of hypertension in uremic patients.

Key words: **Hemodialysis. Hypertension. Adrenomedullin. Nitric Oxide.**

INTRODUCCIÓN

La hipertensión es un factor de riesgo cardiovascular mayor en pacientes en diálisis¹. La prevalencia de esta complicación en los pacientes en tratamiento sustitutivo renal oscila según las series entre el 5 y el 50%².

La patogenia de la hipertensión arterial en los pacientes en hemodiálisis es multifactorial y no totalmente esclarecida³. Aunque la hipervolemia se ha considerado el principal factor patogenético, la alteración del perfil hormonal con una activación del sistema renina-angiotensina, sistema simpático, niveles elevados de factores vasoconstrictores, como la endotelina; así como una posible disminución de la liberación de óxido nítrico podrían jugar un papel en la hipertensión arterial que presentan los pacientes en tratamiento sustitutivo renal. Tampoco la influencia de la disfunción autonómica en el control de la presión arterial en pacientes en hemodiá-

lisis está dilucidada. Finalmente, el uso de eritropoyetina recombinante humana podría haber contribuido a un aumento de la incidencia de hipertensión en la población urémica³. Es posible que un desbalance entre factores vasodilatadores y factores vasoconstrictores pudiera jugar un papel en el desarrollo y mantenimiento de la hipertensión en pacientes en hemodiálisis.

Se ha descrito que la producción de óxido nítrico está aumentada en la uremia y se ha postulado que esta producción podría jugar un papel en la diátesis hemorrágica y la hipotensión asociada a la diálisis⁴. Más recientemente se ha descrito que existe un aumento de los niveles circulantes de inhibidores endógenos de la síntesis de óxido nítrico en la uremia⁵, sugiriendo que su producción podría estar disminuida, por lo que el posible papel de esta autacoide en la fisiopatología de la hipertensión en pacientes con insuficiencia renal crónica terminal en programa de diálisis está lejos de ser esclarecido.

La adrenomedulina es un péptido endógeno de 52 aminoácidos aislado inicialmente a partir de feocromocitoma humano y que presenta importantes efectos vasodilatadores⁶. Existen evidencias crecientes de que este péptido juega un papel como factor paracrino/autocrino en la regulación del sistema cardiovascular⁷. Se ha demostrado la presencia de adrenomedulina en numerosos tejidos, incluyendo la glándula suprarrenal, corazón, cerebro, pulmón y riñón, así como en plasma humano⁸. Los niveles plasmáticos de este péptido están aumentados en diversas enfermedades, tales como la hipertensión arterial, insuficiencia renal crónica, insuficiencia cardíaca, cirrosis hepática con ascitis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica con hipoxia⁹. Asimismo, se ha descrito que la adrenomedulina tiene un efecto hipotensor en el hombre a niveles plasmáticos observados en alguna de las enfermedades anteriores¹⁰. Finalmente, se ha descrito que los niveles plasmáticos de adrenomedulina están elevados en pacientes con insuficiencia renal crónica^{9,11,12} y en pacientes en hemodiálisis¹³⁻¹⁷.

El objetivo de nuestro estudio fue investigar la posible existencia de un desbalance entre factores vasodilatadores, como el óxido nítrico o de adrenomedulina. Para ello determinamos los niveles de diversas hormonas y factores vasoactivos. A fin de excluir el papel que la hipervolemia y la función cardíaca pudieran explicar diferencias entre pacientes hipertensos y normotensos, determinamos asimismo la volemia y fracción de eyección del ventrículo izquierdo mediante métodos isotópicos.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se incluyeron un total de 19 pacientes con insuficiencia renal crónica terminal en programa de hemodiálisis: 9 pacientes hipertensos y 10 normotensos. El grupo de pacientes normotensos estaba constituido por 6 hombres y 4 mujeres, con una edad media de $43,8 \pm 15$ años, y un tiempo medio en hemodiálisis de $7,33 \pm 7,5$ años (media \pm DS). Se definió normotensión como una presión prediálisis $\leq 145/90$ mmHg en los tres meses previos en ausencia de tratamiento hipotensor. Las causas de la insuficiencia renal eran: glomerulonefritis crónica², nefritis tubulointersticial³, poliquistosis renal¹, nefroangioesclerosis¹, síndrome urémico hemolítico¹, causa no filiada².

El grupo de pacientes hipertensos estaba constituido por 6 hombres y 3 mujeres con una edad media de $43,9 \pm 15$ años, y con un tiempo medio en diálisis de $5,99 \pm 4,4$ años (media \pm DS). Se definió hipertensión como una presión sistólica $>$

145/90 mmHg o la necesidad de utilizar fármacos hipotensores durante los tres meses previos. Las causas de la insuficiencia renal eran: glomerulonefritis crónica², nefritis tubulointersticial³, nefroangioesclerosis², nefropatía lúpica¹, causa no conocida¹. Ninguno de los pacientes eran anéfricos, ni tenían evidencia de enfermedad cardíaca o pericárdica. Se excluyeron pacientes diabéticos, con enfermedad sistémica, afectos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, o con disfunción hepática o tiroidea.

A los pacientes hipertensos se les suprimió la medicación hipotensora una semana antes del estudio. Ninguno de los pacientes recibían fármacos vasodilatadores, como nitritos. Todos los pacientes se dializaban tres veces a la semana durante cuatro horas con monitores de ultrafiltración controlada y baño de diálisis con bicarbonato. La medicación de base de los pacientes incluía quelantes del fósforo, vitaminas, suplementos de hierro y eritropoyetina. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de nuestro hospital.

Los estudios se realizaron entre las 8:00 y las 9:00 am, previo a la realización de la sesión de hemodiálisis de mitad de la semana y tras una cena ligera en la noche anterior. Se insertó una cánula a nivel de la vena antecubital para obtener muestras de sangre. Los pacientes permanecieron en decúbito supino durante 45 minutos antes de proceder a la toma de presión y obtención de la muestra sanguínea.

La presión arterial fue medida tres veces en intervalos de 5 minutos mediante un esfigmomanómetro de mercurio, y se calculó la media de las tres mediciones. La presión arterial media (PAM) se calculó como la presión diastólica más un tercio de la presión diferencial y la presión de pulso como la diferencia entre presión arterial sistólica y presión arterial diastólica.

Las muestras de sangre se recogieron en tubos de polipropileno previamente enfriados para ser posteriormente centrifugadas a 4 °C. Los niveles de catecolaminas plasmáticas de determinaron mediante radioinmunoensayo (RIA) (IBL Laboratories Hamburg, Germany) [valores de referencia en nuestro laboratorio: epinefrina plasmática 44 ± 38 pg/ml, norepinefrina plasmática 253 ± 114 pg/ml]. La actividad de la renina plasmática se determinó mediante RIA de angiotensina I generada mediante incubación a pH 7.4 y a 37 °C (Incstar Corp, Stillwater, MN, USA) [valores de referencia normales: $0,28 \pm 0,2$ pg/ml.h]. Los niveles plasmáticos de nitritos/nitratos, utilizados para estimar la producción de óxido nítrico, se determinaron mediante técnicas fluorométricas¹⁸ [valores de referencia en

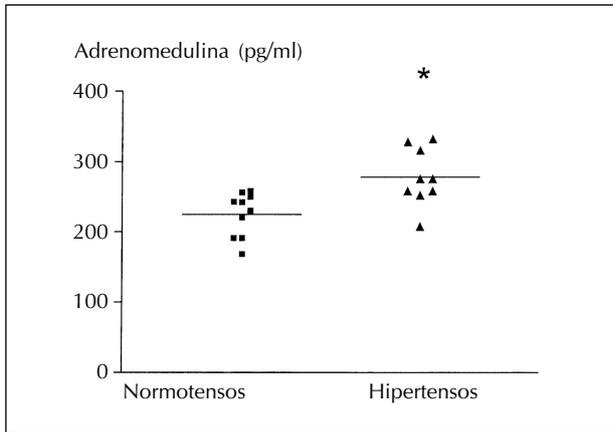


Fig. 1.—Niveles individuales de adrenomedulina en pacientes normotensos e hipertensos. * $p < 0,01$.

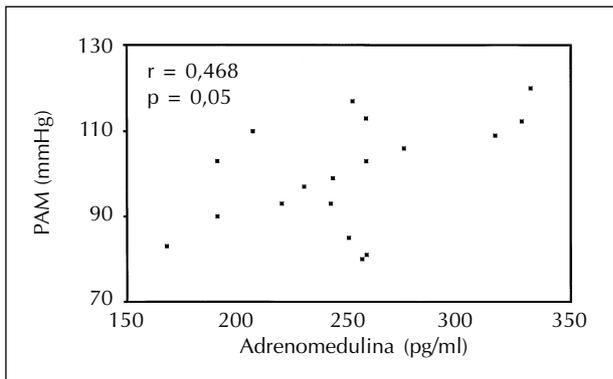


Fig. 2.—Relación entre presión arterial media y niveles de adrenomedulina en los pacientes en hemodiálisis ($r = 0,468$, $p = 0,05$).

nuestro laboratorio: 37 ± 14 nmol/ml]. Los niveles de adrenomedulina plasmática se determinaron mediante RIA utilizando un kit comercial (Phoenix Pharmaceuticals, Mountain View, CA)¹⁹ [valores de referencia en nuestro laboratorio es de 127 ± 58 pg/ml].

El volumen plasmático se determinó mediante técnicas isotópicas utilizando albúmina marcada con 125 I y la fracción de eyección cardíaca mediante ventriculografía isotópica.

Los resultados se expresan como media \pm SEM. La comparación de los dos grupos se realizó mediante el test no paramétrico de la U de Mann-Whitney. Los coeficientes de correlación se calcularon mediante el test de Spearman. Se definió como significativo cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Los valores de presión arterial sistólica, diastólica, media y del pulso eran superiores en los pacientes hipertensos que en los pacientes normotensos, como era de esperar. No existían diferencias entre los dos grupos respecto a la edad, sexo o tiempo en hemodiálisis. Tampoco se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos respecto a la ganancia ponderal interdiálisis, volumen plasmático o fracción de eyección del ventrículo izquierdo (ver tabla I).

Los niveles de norepinefrina y actividad de renina plasmática estaban incrementados en los pacientes dializados respecto los valores de referencia de controles sanos, no obstante no se encontraron diferencias significativas en los niveles de epinefrina, norepinefrina o de la actividad de la renina plasmática entre los dos grupos de pacientes. Los niveles de nitritos/nitratos eran superiores en los pacientes dializados respecto a los valores de referencia, pero tampoco se encontraron diferencias significativas cuando se comparaban los dos grupos. Los niveles de adrenomedulina estaban elevados en el conjunto de pacientes respecto a los valores de referencia. Además los niveles de adrenomedulina estaban más elevados en los pacientes hemodializados hipertensos que en los normotensos ($p < 0,01$).

Cuando se consideraron todos los pacientes, se observó que la presión arterial diastólica ($r = 0,51$, $p < 0,05$ y media ($r = 0,468$, $p = 0,05$) se correla-

Tabla I. Valores demográficos, de presión arterial, hormonales de volemia y de fracción de eyección del ventrículo izquierdo en los dos grupos de pacientes hemodializados.

Pacientes	Normotensos	Hipertensos
Edad (años)	43,8 \pm 4,8	43,9 \pm 4,7
Tiempo en HD (años)	7,33 \pm 2,4	5,99 \pm 1,6
PA sistólica (mmHg)	127,0 \pm 4,5	152,8 \pm 2,8**
PA media (mmHg)	90,4 \pm 2,5	111,3 \pm 2,0**
PA diastólica (mmHg)	72,3 \pm 2,4	88,8 \pm 1,25**
Presión de pulso (mmHg)	54,7 \pm 4,36	64,0 \pm 2,43*
Ganancia peso interHD (g)	3.030 \pm 329	2.663 \pm 430
Noradrenalina (pg/ml)	267,8 \pm 45,2	293,4 \pm 73,1
Adrenalina (pg/ml)	51,8 \pm 9,1	50,8 \pm 14,2
ARP (ng/ml.h)	0,49 \pm 0,14	0,52 \pm 0,16
Nitritos/nitratos (nmol/mL)	109,1 \pm 14,4	95,4 \pm 12,3
Adrenomedulina (pg/ml)	224,9 \pm 9,9	278,3 \pm 15,5**
Volumen plasmático (ml/kg)	43,7 \pm 2,9	48,9 \pm 3,7
FEV ₁ (%)	61,3 \pm 1,9	66,3 \pm 3,4

HD: hemodiálisis; PA: presión arterial, ARP: Actividad renina plasmática. FEV₁: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo. Media ESM. * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$ respecto a los pacientes normotensos.

cionaba directamente con los niveles de adrenomedulina. No se observó correlación entre niveles de adrenomedulina y presión arterial sistólica o de pulso. Los niveles de nitritos/nitratos no mostraron correlación con la presión arterial. Los niveles de nitritos/nitratos o los niveles de adrenomedulina no mostraron relación con la edad, tiempo de estancia en hemodiálisis, ganancia ponderal interdiálisis, niveles de norepinefrina, actividad de renina plasmática, volumen plasmático y fracción de eyección del ventrículo izquierdo cuando se consideraron todos los pacientes en conjunto.

DISCUSIÓN

Los principales resultados de nuestro trabajo son la confirmación de que los niveles de adrenomedulina están aumentados en los pacientes hemodializados, confirmando resultados previos¹³⁻¹⁷. Además observamos que los niveles de adrenomedulina estaban más aumentados en los pacientes hipertensos y que existía una correlación directa entre niveles de presión arterial y niveles de adrenomedulina. Ello sugiere que los niveles de este péptido vasodilatador se elevan de forma compensadora en los pacientes hipertensos. Estos resultados y la existencia de niveles de nitritos/nitratos similares en pacientes hipertensos y normotensos no sugieren la existencia de una disminución de la liberación de estos factores vasodilatadores como causa de la hipertensión en los pacientes hemodializados.

No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos respecto a la ganancia de peso interdiálisis o la volemia, ni tampoco se observó correlación entre presión arterial y ganancia de peso interdiálisis o volemia, sugiriendo que las diferencias de presión arterial entre los dos grupos no eran debidas a una mayor expansión de volumen en el subgrupo de pacientes hipertensos. Asimismo, la función cardíaca estaba preservada y era similar en ambos grupos de pacientes. Tampoco observamos diferencias en los niveles de norepinefrina o de actividad renina plasmática entre los dos grupos de pacientes, sugiriendo que el aumento de presión arterial en el grupo hipertenso no era debido a una activación del sistema nervioso simpático o del sistema renina-angiotensina.

Noris y cols., describieron que la producción plaquetaria de óxido nítrico estaba aumentada en la uremia⁴. Asimismo, se ha descrito en estudios *in vitro* que el plasma urémico, a diferencia del plasma normal, es un potente inductor de la liberación de óxido nítrico en células endoteliales en cultivo⁴ o de la microvasculatura²⁰, sugiriendo que la síntesis

de óxido nítrico está aumentada en la uremia. Asimismo, los pacientes urémicos presentaban niveles elevados de óxido nítrico en el aire exhalado²¹ o de metabolitos de óxido nítrico en plasma²²⁻²⁴ respecto a los controles sanos. Nuestros resultados demostrando que los niveles plasmáticos de nitritos/nitratos se encuentran elevados en los pacientes urémicos, está de acuerdo con los estudios anteriormente mencionados y sugieren un aumento de la síntesis del óxido nítrico en este grupo de pacientes. Sin embargo, recientemente se ha descrito que la producción total de óxido nítrico, utilizando métodos más sensibles, está disminuida en la insuficiencia renal crónica^{25,26}. Finalmente, otro estudio ha descrito que los niveles de nitratos, medido mediante cromatografía de gases-espectrometría de masa, están disminuidos en pacientes urémicos²⁷, sugiriendo que la síntesis y liberación de óxido nítrico está disminuida en la insuficiencia renal crónica. Ello se ha atribuido a la acumulación de inhibidores endógenos de la NO sintetasa en la uremia^{5,27}. Las discrepancias entre los estudios podrían explicarse por la acumulación de los nitratos en los pacientes con insuficiencia renal crónica y la dificultad para determinar la contribución relativa de la dieta y de la síntesis endógena de óxido nítrico en los niveles plasmáticos de nitritos/nitratos en los pacientes en hemodiálisis. El hecho de que los niveles de nitritos/nitratos en pacientes hipertensos sean similares a los pacientes normotensos sugiere que la hipertensión no sería debida a un déficit de la producción de óxido nítrico, aunque estos hallazgos deben ser matizados por las observaciones anteriormente comentadas.

Estudios previos encuentran unos niveles elevados de adrenomedulina en la insuficiencia renal crónica^{9,11,12} y en los pacientes en hemodiálisis¹³⁻¹⁷. Nuestros resultados confirman que los niveles de adrenomedulina se encuentran elevados en estos pacientes, pero la causas de este aumento son desconocidas. Los niveles de adrenomedulina están relacionados con el aclaramiento de creatinina¹², pero los niveles elevados de adrenomedulina en la insuficiencia renal crónica no pueden explicarse únicamente por un descenso del aclaramiento renal, y probablemente también contribuya un aumento en la producción. La regulación de la adrenomedulina es compleja y está influenciada por hormonas circulantes, factores de crecimiento, citoquinas, interleukina-1, factor de necrosis tumoral y lipopolisacáridos^{28,29}. La reciente demostración que los niveles plasmáticos de adrenomedulina disminuyen tras la ultrafiltración de los pacientes en hemodiálisis sugieren que la volemia también está implicada en la regulación de este péptido¹⁵. La ausencia de dife-

rencias en la volemia entre los pacientes hipertensos y normotensos y la ausencia de correlación entre niveles de adrenomedulina y volumen plasmático, sugieren que el aumento de los niveles de adrenomedulina en los pacientes hipertensos no es debida a una mayor expansión del volumen extracelular en este subgrupo de pacientes. Dado que muchos de los factores mencionados previamente se encuentran alterados en los pacientes en hemodiálisis es posible que el aumento de los niveles plasmáticos de adrenomedulina en estos pacientes tengan un origen multifactorial. Los niveles plasmáticos de adrenomedulina son superiores en los pacientes en hemodiálisis hipertensos respecto los normotensos. Esta observación junto con la correlación entre los niveles plasmáticos de adrenomedulina y la presión arterial diastólica y media permiten sugerir que dicha hormona vasodilatadora aumenta de forma compensadora al aumentar la presión arterial. Un estudio previo no encontró ninguna relación entre los niveles plasmáticos de adrenomedulina y la presión arterial media en pacientes urémicos, aunque los criterios de selección de pacientes no fueron especificados¹³. Un estudio de Toepfer y cols., observó una relación positiva entre los niveles de adrenomedulina y la presión arterial media en pacientes hemodializados¹⁶. Este estudio incluyó pacientes normotensos e hipertensos, con una edad superior a los de nuestro grupo, y a diferencia de nuestros pacientes, un tercio de ellos padecían insuficiencia cardíaca y un 24% de ellos eran diabéticos, circunstancias ambas que se asocian a una elevación de los niveles de adrenomedulina^{9,30,31}. Además, en estos estudios no se determinó la volemia o la fracción de eyección, por lo que no puede descartarse la existencia de hipervolemia o de insuficiencia cardíaca subclínica en los pacientes estudiados como causa de las diferencias en ambos grupos. En nuestro estudio el grupo de pacientes hipertensos mostraban unos niveles de adrenomedulina medios un 23% superiores a los observados en los pacientes normotensos, que es equivalente a los resultados obtenidos por Toepfer y cols., en su subgrupo de pacientes hipertensos no complicados (23%)¹⁶.

Por lo tanto, podemos concluir que los niveles plasmáticos de nitritos/nitratos y de adrenomedulina están elevados en los pacientes hemodializados, sugiriendo que la liberación de óxido nítrico y adrenomedulina está aumentada en esta situación. Además, los niveles de adrenomedulina eran superiores en el subgrupo de pacientes hipertensos respecto a los normotensos y existía una relación directa entre presión arterial y niveles de adrenomedulina, sugiriendo que esta hormona vasodilatadora se incrementa de forma compensatoria en estos pacientes.

Nuestros resultados no sugieren que un déficit de estos factores vasodilatadores estén implicados en la fisiopatología de la hipertensión arterial en los pacientes hemodializados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Charra B: Control of blood pressure in long slow haemodialysis. *Blood Purif* 18: 252-258, 1994.
2. White RP, Rubin AL: Blood pressure control in chronic dialysis patients. En: Drukker W, Parsons FM, Maher JF, eds. *Replacement of renal function by dialysis*. Boston, Martinus Nijhoff. p. 575, 1993.
3. Bellinghieri G, Santoro D, Mazzaglia G, Savica V: Hypertension in dialysis patients. *Miner Electrolyte Metab* 25: 84-89, 1999.
4. Noris M, Benigni A, Boccardo P, Aiello S, Gaspari F, Todeschini M, Figliuzzi M, Remuzzi G: Enhanced nitric oxide synthesis in uremia: implications for platelet dysfunction and dialysis hypotension. *Kidney Int* 44: 445-450, 1993.
5. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S: Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339: 572-575, 1992.
6. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T: Adrenomedullin, a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 192: 553-60, 1993.
7. Kitamura K, Eto T: Adrenomedullin: Physiological regulator of the cardiovascular system or biochemical curiosity? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 6: 80-87, 1997.
8. Ichiki Y, Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Matsuo H, Eto T: Distribution and characterization of immunoreactive adrenomedullin in human tissue and plasma. *FEBS Lett* 338: 6-10, 1994.
9. Cheung B, Leung R: Elevated plasma levels of human adrenomedullin in cardiovascular, respiratory, hepatic and renal disorders. *Clin Sci* 92: 59-62, 1997.
10. Lainchbury JG, Cooper GJ, Coy DH, Jiang NY, Lewis KL, Yandle TG, Richards AM, Nicholls MG: Adrenomedullin a hypotensive hormone in man. *Clin Sci* 92: 467-472, 1997.
11. Ishimitsu T, Nishikimi T, Saito Y, Kitamura K, Eto T, Kangawa K, Matsuo H, Omae T, Matsuo K: Plasma levels of adrenomedullin, a newly identified hypotensive peptide, in patients with hypertension and renal failure. *J Clin Invest* 94: 158-2161, 1994.
12. Eto T, Washimine H, Kato J, Kitamura K, Yamamoto Y: Adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide in impaired renal function. *Kidney Int* 49 (Supl. 55): S148-S149, 1996.
13. Washimine H, Yamamoto Y, Kitamura K, Tanaka M, Ichiki Y, Kangawa K, Matsue H, Eto T: Plasma concentration of human adrenomedullin in patients on hemodialysis. *Clin Nephrol* 44 (6): 389-393, 1995.
14. Sato K, Hirata Y, Imai T, Washina M, Marumo F: Characterization of immunoreactive adrenomedullin in patients on hemodialysis. *Life Sci* 57: 189-194, 1995.
15. Mallamaci F, Zoccali C, Parlongo S, Cutrupi S, Tripeti G, Postorino M: Plasma adrenomedullin during acute changes in intravascular volume in hemodialysis patients. *Kidney Int* 54: 1697-1703, 1998.
16. Toepfer M, Schlosshauer M, Sitter T, Burchardi C, Behr T, Schiffl H: Effects of hemodialysis on circulating adrenomedullin concentrations in patients with end-stage renal disease. *Blood Purif* 16: 269-274, 1998.

A. CASES y cols.

17. Cases A, Esforzado N, Lario S, Vera M, López-Pedret J, Rivera-Fillat F, Jiménez W: Increased plasma adrenomedullin levels in hemodialysis patients with sustained hypotensión. *Kidney Int* 57: 664-70, 2000.
18. Misko TP, Schilling RJ, Salvemini D, Moor WM, Currie MG: A fluorometric assay for the measurement of nitrite in biological samples. *Anal Biochem* 214: 11-16, 1993.
19. Guevara M, Ginés P, Jiménez W, Sort P, Fernández-Esparrach G, Escorsell A, Bataller R, Bosch J, Arroyo V, Rivera FA, Rodes J: Increased adrenomedullin levels in cirrhosis: relationship with hemodynamic abnormalities and vasoconstrictor systems. *Gastroenterology* 114: 336-343, 1998.
20. Thuraishingham RC, Cramp HA, MacMahon AC, Wilkes M, Nott CA, Dodd SM, Yaqoob MM, Cunningham J: Increased superoxide and nitric oxide production results in peroxynitrite formation in uremic vasculature. *J Am Soc Nephrol* 8: 430A, 1997.
21. Matsumoto A, Hirata Y, Kakoki M, Nagata D, Monomura SI, Sugimoto T, Tagawa H, Omata M: Increased excretion of nitric oxide in exhaled air of patients with chronic renal failure. *Clin Sci* 96: 67, 1997.
22. Madore F, Prud'homme M, Austin JS, Blaise G, Francoeur M, Leveillé M, Prud'homme M, Vinay P: Impact of nitric oxide on blood pressure in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 30: 665-71, 1997.
23. Yokokawa K, Mankus R, Saklayen MG, Kohno M, Yasunari K, Minami M, Kano H, Horio T, Takeda T, Mandel AK: Increased nitric oxide production in patients with hypotension during hemodialysis. *Ann Intern Med* 123: 35-37, 1995.
24. Martensson L, Hegbrandt J, Thysell H: Generation of nitrate during dialysis as a measure of nitric oxide synthesis. *Artif Organs* 21: 163, 1995.
25. Wever R, Boer P, Hijmering M, Stroes E, Verhaar M, Kastelein J, Versluis K, Lagerwerf F, Van Rijn H, Koomans H, Rabelink T: Nitric oxide production is reduced in patients with chronic renal failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 1168-72, 1999.
26. Schmidt RJ, Domico J, Samsell LS, Yokota S, Tracy TS, Sorokin MI, Engels K, Baylis C: Indices of activity of the nitric oxide system in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 34: 228-234, 1999.
27. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Schäfer J, Barbey M, Koch KM, Frölich JC: Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 10: 594-600, 1999.
28. Sugo S, Minamino N, Shoji H, Kangawa K, Matsuo H: Effect of vasoactive substances and cAMP related compounds on adrenomedullin production in cultured vascular smooth muscle cells. *FEBS Letts* 369: 311-314, 1995.
29. Sugo S, Minamino N, Shoji H, Kangawa K, Kitamura K, Eto T, Matsuo H: Interleukin-1, tumor necrosis factor and lipopolysaccharide additively stimulate production of adrenomedullin in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 207: 25-32, 1995.
30. Nakamura T, Honda K, Ishikawa S, Kitamura K, Eto T, Saito T: Plasma adrenomedullin levels in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus: close relationships with diabetic complications. *Endocr J* 45: 241-246, 1998.
31. Nishikimi T, Saito Y, Kitamura K, Ishimitsu T, Esto T, Kangawa K, Matsuo H, Omae T, Matusoka H: Increased plasma levels of adrenomedullin in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 26: 1424-1431, 1995.